

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: 21720091152204

UDC\_\_\_\_\_

廈門大學

硕士学位论文

**Wnt 信号在肝细胞肝癌上皮-间质转化过程  
中调节 HNF4a 表达的分子机制**

**The molecular mechanism of Wnt signaling regulates HNF4a  
during Epithelial-Mesenchymal Transition in Hepatocellular  
Carcinoma**

祝珊珊

指导教师姓名: 李博安 教授

专 业 名 称: 细胞生物学

论文提交日期: 2012 年 5 月

论文答辩时间: 2012 年 6 月

学位授予日期: 2012 年

答辩委员会主席: 李勤喜

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2012 年 5 月

---

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为(发育与肿瘤细胞生物学)课题(组)的研究成果,获得(李博安)课题(组)经费或实验室的资助,在(生物二馆 221)实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名): 祝珊珊

2012 年 6 月 3 日

---

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（     ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于  
年   月   日解密，解密后适用上述授权。

（   √  ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：祝珊珊

2012 年 6 月 3 日

## 目录

<b>摘要</b>	<b>1</b>
<b>Abstract</b>	<b>2</b>
<b>第一章前言</b>	<b>4</b>
<b>1.1 EMT 概述</b>	<b>4</b>
1.1.1 EMT 的提出	4
1.1.2 EMT 相关分子机制及靶基因	4
1.1.3 调控 EMT 的转录因子	5
1.1.4 与 EMT 相关的信号通路	6
1.1.5 EMT 与肿瘤发生	7
<b>1.2 Wnt 信号通路</b>	<b>8</b>
1.2.1 Wnt 信号通路概述	8
1.2.2 Wnt 信号通路的分类	8
1.2.3 $\beta$ -catenin 生物学功能	10
1.2.4 TCF 在 Wnt 信号通路的重要作用	11
1.2.5 Wnt 信号与肿瘤发生	11
1.2.6 Wnt 信号与 EMT	12
<b>1.3 肝细胞核因子 HNF4a</b>	<b>12</b>
1.3.1 肝细胞核因子 HNF4a 概述	12
1.3.2 肝细胞核因子 HNF4a 的功能	12
1.3.3 肝细胞核因子 HNF4a 与癌症	13
<b>第二章材料与方法</b>	<b>16</b>
<b>2.1 常用的药品和试剂</b>	<b>16</b>
<b>2.2 基因相关实验方法</b>	<b>16</b>
2.2.1 大肠杆菌感受态细胞的制备	16
2.2.2 质粒 DNA 的转化	17
2.2.3 质粒小抽 (Omega 试剂盒)	18
2.2.4 质粒中抽 (GE 试剂盒)	18

2.2.5 细胞基因组 DNA 的提取 .....	19
2.2.6 质粒 DNA 的工具酶处理 .....	19
2.2.6.1 DNA 的限制性内切酶消化 .....	19
2.2.6.2 线性 DNA 末端平滑化 .....	20
2.2.7 PCR 扩增反应 .....	20
2.2.7.1 扩增不同标签载体的 HNF4a cDNA 序列 .....	20
2.2.7.2 扩增 HNF4a 启动子 (promotor) 序列 .....	21
2.2.7.3 HNF4a 启动子上基因的点突变 .....	22
2.2.8 DNA 样品琼脂糖凝胶电泳 .....	22
2.2.9 琼脂糖胶回收 DNA 片段 (Omega 试剂盒) .....	23
2.2.10 DNA 片段与载体 DNA 的连接反应 .....	24
2.2.11 RNA 相关实验 .....	24
2.2.11.1 Trizol 法提取 RNA .....	24
2.2.11.2 RNA 的反转录实验 (Toyobo 试剂盒) .....	25
2.2.11.3 实时荧光定量 PCR (real-time 实验, Toyobo 试剂盒) .....	25
<b>2.3 细胞相关实验方法 .....</b>	<b>26</b>
2.3.1 细胞系与细胞培养试剂 .....	26
2.3.2 细胞转染 .....	26
2.3.2.1 磷酸钙转染法 .....	26
2.3.2.2 PEI 转染法 .....	27
2.3.2.3 Lipofectamine 转染试剂转染法 .....	27
2.3.2.4 慢病毒的包装 .....	28
2.3.2.5 逆转录病毒感染法 .....	28
2.3.2.6 BIO 刺激细胞 .....	28
2.3.2.7 细胞划痕实验 (Wound healing) .....	29
2.3.2.8 细胞侵袭实验 (Transwell) .....	29
<b>2.4 蛋白相关实验方法 .....</b>	<b>30</b>
2.4.1 全细胞裂解物的制备 .....	30
2.4.2 免疫印记实验 (Western blotting) .....	30
2.4.3 免疫共沉淀实验 (Co-IP) .....	31

2.4.4 染色质免疫共沉淀 (CHIP) .....	32
2.4.5 荧光素酶实验法 (Luciferase assay) .....	33
<b>第三章实验结果.....</b>	<b>35</b>
<b>3.1 在肝细胞癌中 Wnt 信号诱导的 EMT 可负调节 HNF4a.....</b>	<b>35</b>
3.1.1 肝癌细胞系中缺失 Wnt 信号导致细胞形态变化 .....	35
3.1.2 Wnt 信号与 EMT 相关靶蛋白的关系 .....	36
3.1.3 细胞侵袭性与迁徙性变化 .....	37
3.1.4 EMT 相关的 Wnt 靶基因的水平 .....	38
3.1.5 Wnt 信号调节 HNF4a 的表达 .....	40
<b>3.2 Wnt 信号通过 Snail 和 Slug 负调节 HNF4a. ....</b>	<b>41</b>
3.2.1 Wnt 靶基因对 HNF4a 的调节作用 .....	41
3.2.2 Snail 和 Slug 与 HNF4a 启动子的结合 .....	42
3.2.3 Snail、Slug 可抑制 HNF4a 的启动子 .....	43
<b>3.3 Wnt 信号通路与 HNF4a 在肝细胞癌 EMT 中的功能关系 .....</b>	<b>46</b>
3.3.1 $\beta$ -catenin 与 HNF4a 在肝细胞癌 EMT 中的相关性 .....	46
3.3.2 HNF4a 逆转 Wnt 信号诱导的肝细胞癌迁移性与侵袭性 .....	48
<b>第四章 讨论.....</b>	<b>48</b>
<b>参考文献.....</b>	<b>53</b>
<b>主要缩略语及英文对照.....</b>	<b>55</b>
<b>致谢.....</b>	<b>56</b>

## TABLE OF CONTENT

<b>ABSTRACT (IN CHINESE).....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT (IN ENGLISH).....</b>	<b>2</b>
<b>CHAPTER 1 Introduction .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1 Review on EMT .....</b>	<b>4</b>
1.1.1 EMT Introduction .....	4
1.1.2 Molecular mechanism and target genes of EMT .....	4
1.1.3 EMT transcription factors .....	5
1.1.4 The signaling pathway of EMT .....	6
1.1.5 EMT and tumor .....	7
<b>1.2 Review on Wnt signaling pathway .....</b>	<b>8</b>
1.2.1 Wnt introduction .....	8
1.2.2 Classification of Wnt signaling .....	8
1.2.3 Biological function of beta-catenin .....	10
1.2.4 The most important function of TCF .....	11
1.2.5 Wnt and tumor .....	11
1.2.6 Wnt and EMT .....	12
<b>1.3 Review on HNF4<math>\alpha</math> .....</b>	<b>12</b>
1.3.1 HNF4 $\alpha$ introduction .....	12
1.3.2 Function of HNF4 $\alpha$ .....	12
1.3.4 HNF4 $\alpha$ and HCC .....	13
<b>CHAPTER 2 Materials and Methods.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 Chemicals and reagents .....</b>	<b>16</b>
<b>2.2 Cloning experiments .....</b>	<b>16</b>
2.2.1 Prepare of E.coli .....	16
2.2.2 Plasmid DNA transform .....	17
2.2.3 Extraction of Plasmid(Omega) .....	18
2.2.4 Extraction of Plasmid (GE).....	18
2.2.5 Extraction of Genome DNA .....	19
2.2.6 Enzymatic manipulation of plasmid DNA.....	19
2.2.6.1 Restriction endonuclease digestion of DNA .....	19
2.2.7 Polymerase chain reaction (PCR) .....	20

## TABLE OF CONTENT

2.2.7.1 Amplification of HNF4a cDNA.....	20
2.2.7.2 Amplification of HNF4a promoter .....	20
2.2.7.3 Point mutant of HNF4a promoter .....	21
2.2.8 Separation of DNA by electrophoresis in agarose gel.....	22
2.2.9 Recovery of DNA by electrophoresis in agarose gel.....	22
2.2.10 DNA fragment and Vector Ligation .....	23
2.2.11 RNA methods .....	24
2.2.11.1 RNA preparation.....	24
2.2.11.2 Reverse transcription of RNA .....	24
2.2.11.3 Real-time PCR (Toyobo) .....	25
<b>2.3 Cell experiments .....</b>	<b>26</b>
2.3.1 Cell lines and Materials.....	26
2.3.2 Cell transfection .....	26
2.3.2.1 Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> transient transfection .....	26
2.3.2.2 PEI transient transfection.....	27
2.3.2.3 Lipofectamine transient transfection.....	27
2.3.2.4 Lentivirus production and infection.....	28
2.3.2.5 Retrovirus infection .....	28
2.3.2.6 BIO stimulate cells.....	28
2.3.2.7 Wound healing .....	29
2.3.2.8 Transwell.....	29
<b>2.4 Protein work .....</b>	<b>30</b>
2.4.1 Whole lysate preparation .....	30
2.4.2 Western blotting.....	30
2.4.3 Co-IP.....	31
2.4.4 CHIP.....	32
2.4.5 Luciferase assay .....	33
<b>CHAPTER 3 Results.....</b>	<b>35</b>
<b>3.1 HNF4<math>\alpha</math> expression is negatively regulated during Wnt signaling induced EMT in HCC cells .....</b>	<b>35</b>
3.1.1 Depleted Wnt result cell morphology change.....	35
3.1.2 The relationship between Wnt and EMT target genes .....	36
3.1.3 Cell invasion and migration .....	37



## TABLE OF CONTENT

---

3.1.4 EMT and Wnt target genes change .....	38
3.1.5 Wnt regulate HNF4a .....	40
<b>3.2 Wnt signaling negatively regulates HNF4<math>\alpha</math> through Snail and Slug .....</b>	<b>41</b>
3.2.1 Wnt target gene overexpression inhibit HNF4a expression .....	41
3.2.2 Snail/Slug binding the promoter of HNF4a .....	42
3.2.3 Snail /Slug repress HNF4a promoter .....	43
<b>3.3 Functional relevance between Wnt signaling and HNF4<math>\alpha</math> during EMT in HCC cells .....</b>	<b>46</b>
3.3.1 Functional relevance between $\beta$ -catenin and HNF4a in HCC .....	46
3.3.2 HNF4a reverse Wnt signaling function in HCC .....	48
<b>CHPARTER 4 Discussion .....</b>	<b>48</b>
<b>REFERENCE .....</b>	<b>53</b>
<b>ABBREVIATONS .....</b>	<b>55</b>
<b>ACKNOWLEDGEMEN .....</b>	<b>56</b>

## 摘要

肝癌在所有癌症的发病率中占到了5%，其死亡率在世界排名前三。肝癌病人最不良的结果是肝癌的高转移性导致其失去手术切除肿瘤的机会。肿瘤转移是一个复杂的过程并可最终导致死亡。成纤维细胞的转化是肿瘤细胞成功迁移的第一步。许多研究已经证实上皮-间质（EMT）细胞转化在肿瘤的转化及进程中发挥重要的作用。调控这一转化过程的其中一个信号通路是Wnt信号通路。激活Wnt信号能促进增殖，上皮形态缺失和脱分化。Wnt信号在多种肿瘤，如乳腺癌、胃癌、宫颈癌等癌细胞中调节EMT的发生和发展。目前在肝癌细胞中关于Wnt与EMT的相关研究较少，并且还没有明确结论，下游调节的分子机制也不清楚。Wnt信号在肝癌EMT的发生中，要么不起作用，要么也有一定的调节方式。许多研究已证实肝细胞核因子4- $\alpha$ （HNF4a）在胚胎发育及维持成人肝细胞分化表型中发挥重要功能。下调该基因表达与肝癌发生及细胞增殖、上皮形态缺失、脱分化相关，这正与Wnt信号通路异常激活的功能一致。而我们的研究主要集中在Wnt信号诱导的肝细胞癌EMT进程是否调控HNF4a的表达。

本课题从分子、细胞水平上系统地研究了Wnt信号通路诱导的肝细胞癌EMT进程负调控HNF4a的分子机理。首先，我们在肝癌细胞系中转染缺失 $\beta$ -catenin结合位点的dnTCF验证Wnt信号与肝癌细胞EMT形态的直接调控关系，即Wnt信号减弱会导致肝癌细胞EMT表型改变，肝癌细胞由纺锤状的间充质形态向上皮质形态转化。接着，dnTCF导致的Wnt信号缺失能改变EMT标记基因E-cadherin与Vimentin的水平，并下调Wnt靶基因Axin2、Snail及Slug的水平，说明Wnt信号与肝癌细胞EMT的正相关性。再次，我们证实了在肝癌细胞系中Wnt信号诱导的EMT可负调控HNF4a；激活Wnt信号直接导致细胞内HNF4a水平的急剧下降。并通过进一步的研究发现Wnt信号主要是通过下游靶基因Snail和Slug与HNF4a启动子上的E-BOX序列结合而负调控HNF4a。最后，我们的研究还发现Wnt信号通路与HNF4a存在此升彼降、此降彼升的关系，暗示HNF4a与Wnt信号是一个双负调控环的关系。

关键字：肝细胞癌；Wnt信号；EMT；HNF4a

## Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) accounts for more than five percent of all cancer cases and is the third leading cause of cancer mortality worldwide. The extremely poor prognosis of patients with HCC is mainly due to the high frequency of tumor early metastasis, which leads to the loss of opportunity for surgical resection. Metastasis is a complex process that finally causes the cancer-related death. Transformation of cells to a fibroblastic phenotype is the first step for the cancer cells to successfully metastasize. Accumulated evidences have suggested that the induction of epithelial to mesenchymal transition (EMT) plays a critical role in cancer cell transformation and progression. One of the signaling pathways to regulate EMT is Wnt signaling pathway. Activated Wnt can promote cell proliferation, deficiency of epithelial and dedifferentiation. Wnt signaling relates to EMT in several cancer types such as breast, gastric, cervical and so on. At present, the relationship between Wnt signaling with EMT in HCC is unknown, and the underlying molecular mechanism in HCC is not completely defined. The Wnt signaling either not play a part in EMT or play a particular regulate in HCC. As one of the important factors regulate the function of hepatocellular, many researches have identified that HNF4a is a key regulator of both hepatocyte differentiation during embryonic development and maintenance of differentiated phenotype of mature liver. Downregulation this gene has relate with cancer in liver, and result in cell proliferation, deficiency of epithelial and dedifferentiation which adverse with Wnt signaling pathway. Our researcher focus on whether HNF4a has been regulated during Wnt signaling induced EMT in HCC cells.

To validate the problem on the biological function of Wnt signaling regulates HNF4a during its induce EMT in HCC cells and the involving molecular mechanism, we use diverse of methods including molecular and cellular technology. First of all, We depleted Wnt activity by enforced expression of a dominant negative TCF4 (dnTCF4) which lacks the  $\beta$ -catenin binding domain in hepatic cells, found Wnt ablation induced a change from spindle-like mesenchymal morphology into epithelial morphology. Then we found consistent with the phenotypic change associated with Wnt depletion was an increased expression of epithelial marker E-cadherin

concomitant with a down regulation of mesenchymal marker Vimentin, and the EMT related Wnt target genes Axin2、Snail and Slug has also reduce which declare the positive relationship between Wnt and EMT in HCC cells. The further researches have demonstrated that Wnt signaling negatively regulates HNF4 $\alpha$  through Snail and Slug occupied the E-BOX of HNF4 $\alpha$  promoter .Finally, we found the relationship between Wnt signaling and HNF4 $\alpha$  is when one up then the other down which suggest a double-negative feedback loop between Wnt signaling and HNF4 $\alpha$  in HCC cells.

Key words: Hepatocellular carcinoma ;Wnt signaling; EMT; HNF4 $\alpha$

## 第一章 前言

### 1.1 EMT 概述

#### 1.1.1 EMT 的提出

上皮-间质转化 (epithelial -mesenchymal transition, EMT) 是指与细胞基膜相连的具有极性的上皮细胞在某些特定的生理和病理情况下向间充质细胞形态转变, 同时伴随细胞形态和相关基因改变的过程。这一概念最早由Greenberg和Hay<sup>[1]</sup>于1982年提出。他们发现晶状体上皮细胞可在胶原凝胶中转化为间质细胞样形态。EMT是一个多步骤、有序的、可高度调节的过程。其发生是以上皮细胞极性的丧失以及间质特性的获得为特征的<sup>[2]</sup>。EMT的完成通过基膜的降解为信号, 并能从起始的上皮层形成迁移性的间叶质细胞<sup>[3]</sup>。大量的研究证实EMT能参与多细胞生物胚胎发育与器官形成, 并且在肿瘤发生与转移以及多种慢性疾病如炎症等的发生发展过程中发挥着重要的作用。

#### 1.1.2 EMT 相关分子机制及靶基因

对大多数癌症病人来说肿瘤转移是导致其死亡的最主要原因<sup>[4]</sup>。然而肿瘤发生的多种机制还并未揭示<sup>[5]</sup>, 与肿瘤转移相关的机制和信号通路才正开始浮出水面<sup>[6, 7]</sup>。原位肿瘤的侵袭--转移从病灶局部发生, 进入血管内渗, 通过血管转移到远处位置, 溢出, 并最后形成第二位置的转移灶<sup>[7]</sup>。人们早已知道当发生癌症时粘附细胞通常会减少。肿瘤细胞的转移与分离贯穿整个肿瘤块并且上皮肿瘤通常有高迁移的潜能<sup>[8]</sup>。EMT过程通过降低细胞内粘附, 失去平面结构及细胞极性, 并获得间质形态, 从而增强迁移和侵袭能力, 最终增加了抵抗凋亡的能力。

在 EMT 过程中有一系列独特的分子参与并使之完全完成。参与这些过程的因子可以用生物标记去证明细胞经历的 EMT 进程<sup>[3]</sup>。上皮细胞标记和间叶质细胞标记通常被 EMT 的研究者们作为肿瘤细胞发生 EMT 进程的标记, 例如 E-cadherin、Micro200 family、Vimentin、fibronectin 等, 如图 1.1 所示即为 EMT

进程中各项标记因子。EMT 前后两种形态的共同域有特定的标记物而规定其为中间型态，表明细胞正经历部分 EMT 进程。EMT 的主要标记物包含下游的 E-cadherin，这个蛋白是细胞间粘附的重要因子，而 Vimentin 则是代表间质形态的上游标记物<sup>[9]</sup>。多个信号通路：如 TGF $\beta$ ，Wnt，Notch，EGF，HGF，FGF，HIF 等被报道同时在胚胎发育过程和正常及转化的细胞系中引发 EMT<sup>[2]</sup>。这些信号通路激活多个 EMT 相关转录因子，如 Snail (Snail1)，Slug (Snail2)，Twist，EF1/ZEB1,SIP1/ZEB2, 和 E47，这些因子或直接或间接地抑制 E-cadherin 的产生<sup>[10]</sup>。并促进 Vimentin 等的表达，从而使细胞经历 EMT 转化。

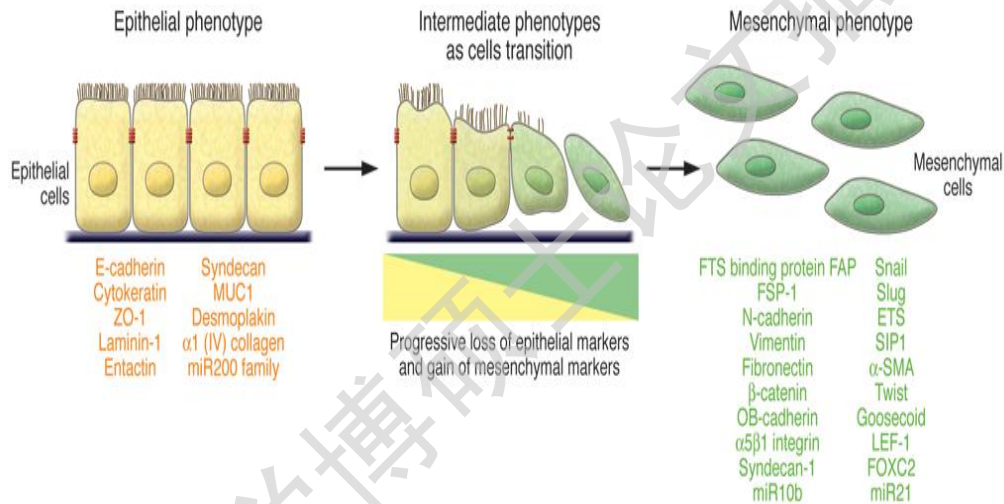


图 1.1 与 EMT 进程相关的标记分子

### 1.1.3 调控 EMT 的转录因子

上皮细胞转化为间叶细胞需要在形态、细胞架构、黏附以及迁移能力上发生改变。通常采用分子标记物来鉴别 EMT，如 N-cadherin、Vimentin 的激增，细胞核定位因子  $\beta$ -catenin 和转录因子 Snail (Snail1)，Snail2 (Slug)，Twist，EF1/ZEB1，SIPI/ZEB2，以及能抑制 E-cadherin 产生的 E47 等分子。EMT 表型标记包含细胞的迁移能力增强，以及有三维侵袭态，犹如脱落凋亡/细胞凋亡的逆转<sup>[11]</sup>。近年来，许多研究证实：Twist、Snail、Slug、NF- $\kappa$ B 等多种转录因子可以促进 EMT，在肿瘤细胞转移中起重要作用。Twist 属于碱性螺旋-

环-螺旋蛋白家族,是一个高度保守的转录因子,可以调节胚胎发育中的组织重建,并赋予细胞迁徙的能力。研究发现,表达 Twist 的细胞呈细长形, Twist 可能与 E-box 序列结合,下调 E-cadherin 和  $\beta$ -catenin 等黏附连接蛋白表达,激活间质标记物,从而引起 EMT<sup>[12]</sup>。Min 等<sup>[13]</sup>证实,在 EMT 的发生和维持的过程中, NF- $\kappa$ B 是必需的,抑制 NF- $\kappa$ B,可以阻止 EMT 的发生;相反的,激活 NF- $\kappa$ B 则可以促进上皮细胞向间质细胞转变。核因子- $\kappa$ B ( nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B )可与 Vimentin 基因启动子调节序列结合,促进 Twist 表达,诱导 EMT 发生。NF- $\kappa$ B 可以上调 ZEB1( zinc finger E-box binding homeobox 1), ZEB-1 可抑制多种重要的上皮分化和细胞黏附因子,抑制 E-cadherin 的表达,诱导 EMT 发生<sup>[14]</sup>。

在这些转录因子的调控过程中, Snail 可以认为是调控肿瘤进程中的 EMT 的关键因子,对肿瘤的侵袭和转移起关键作用。Snail 首先在果蝇中被鉴别出来,随后相继在不同哺乳动物包括人类中被识别;在胚胎发育中, Snail 对中胚层及神经嵴的发育起重要作用<sup>[15]</sup>。Larue<sup>[16]</sup>等发现:在中胚层及神经嵴的前体中, Snail 促发了上皮细胞向间充质细胞转变( EMT),促使它们各自从原条与神经管分层。Snail 属于锌指转录因子家族,这个家族包括 snail1 ( Snail ), snail2 ( Slug ) 和 SIP1 等。Snail 和 Slug 通过与 Smad 相互作用蛋白( Smad-interacting protein-1, SIP1)竞争性结合 E-cadherin 启动子区的 E-box 序列,抑制 E-cadherin、Occludin 等的表达,上调 FSP1、vimentin 和 Rho 等表达,导致细胞和细胞间连接减少,最终促进肿瘤细胞的侵袭转移从而诱导 EMT 的发生<sup>[17]</sup>。

#### 1.1.4 与 EMT 相关的信号通路

EMT 的发生涉及到多个信号转导通路,而且各通路之间关系复杂,相互影响。由于 EMT 信号网络的复杂性和研究方法的局限性,目前对 EMT 详细调控机制仍不能准确绘制出完整的网络图,就只能以现今所知绘出部分信号图。如图 1.2<sup>[11]</sup>。

EMT 涉及的主要通路有 TGF- $\beta$  /Smad 通路、GSK-3 $\beta$ 、PI3K/AKT 通路、Src 通路、Wnt / $\beta$ -catenin 通路及整合素通路等。各种细胞因子通过以上通路作用于靶基因,从而获得侵袭转移能力。TGF- $\beta$  在肿瘤的发生发展中扮演着双重角色:既能抑制原位肿瘤细胞的增殖,又能在肿瘤的侵袭转移过程中扮演肿瘤生长促

进因子的角色<sup>[16]</sup>。

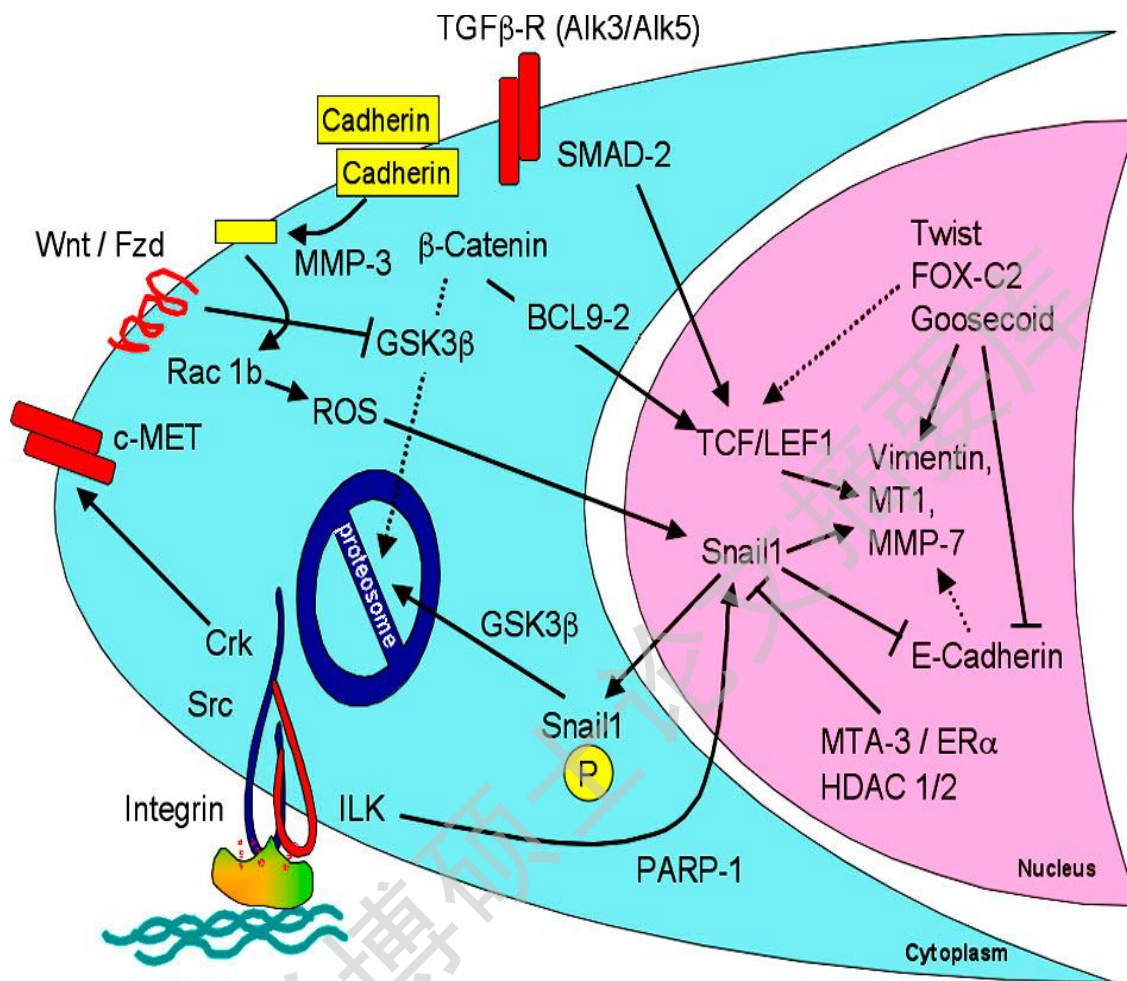


图 1.2 与 EMT 相关的信号通路

GSK-3 $\beta$ 介导的Wnt信号通路通过磷酸化依赖蛋白降解作用调节产生丰富的 $\beta$ -catenin，并与细胞核内TCF /LEF1发生作用，从而与EMT发生关联<sup>[18]</sup>。Snail、Slug、Twist 都可以结合E-cad 启动子区的E-box (CAGGTG)，在转录水平上抑制E-cad 的表达<sup>[12]</sup>。

### 1.1.5 EMT与肿瘤发生

EMT 的发生涉及多种信号转导通路,与诱导因子、转录因子及微环境等有关。研究表明, EMT 参与肿瘤的发生与发展,在促进肿瘤侵袭转移中发挥了重要作用。

EMT现象是大部分肿瘤转移早期的必经阶段。上皮细胞癌的最初发生表现为过多的上皮细胞增殖和血管增生<sup>[5]</sup>。随后在通过基膜而出现侵袭性被认为是癌细胞扩散的标志。表型侵袭性获得的遗传控制和生物化学机制以及随后癌症



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库